Société Royale des Sciences Médicales et Naturelles
de Bruxelles

ANNALES

ET

BULLETIN DES SÉANCES

74e Année — 1920

BRUXELLES
LIBRAIRIE MÉDICALE DE MAURICE LAMERTIN
58, rue Coudenberg (Montagne de la Cour)

—

1920

toliques (qui montrent des variations d'accélérations pures ne portant que sur la durée de la diastole) ; 4° les expériences d'excitation du vague restées absolument sans effet sur l'arythmie et enfin 5° les résultats thérapeutiques qui ont montré l'effet très net de la médication thyroïdienne sur l'intensité de l'irrégularité sinusale dont il a été question ici.

Institut de Physiologie. Bruxelles.

Peut-on obtenir du moût de bière alcalin ?

par Hubert KUFFERATH

—

Le moût de bière a normalement une réaction acide. Pasteur, dans ses *Etudes sur la bière*, a démontré l'utilité de l'acidité pour le développement des levures ; Duclaux (*Traité de Microbiologie*) a conseillé les milieux acidifiés par l'acide tartrique pour le triage et l'isolement des levures.

L'acidité du moût de bière permet, ainsi qu'on l'admet généralement, aux ferments alcooliques de lutter avec succès contre les organismes bactériens et mycodermiques, qui sans cela envahiraient les moûts. Les conditions de développement favorables aux Saccharomycètes ne seraient pas réalisées dans un milieu alcalin ; en pratique, un tel milieu serait rapidement envahi par des végétations parasites, nuisibles aux levures. La production d'acide ou d'alcool, au cours de la fermentation, assure aux levures les mêmes avantages que l'acidité originelle du moût ; elle leur permet de se développer librement sans trop craindre la concurrence d'autres microorganismes. L'acidité et l'alcool jouent un rôle protecteur attribué soit à la toxicité, soit à la concentration de ces substances. Ces vues sont basées sur de nombreuses observations, et elles semblent définitivement acquises à la science.

La littérature spéciale à la fermentation présente de nombreux renseignements sur l'acidité des milieux et leur acidification ou leur désacidification par les levures. Au contraire, on ne trouve que rarement des indications sur l'influence de l'alcalinité des milieux sur la fermentation. Seul le *Traité de Microbiologie*, (t. III) de Duclaux renferme quelques données sur ce sujet.

Duclaux conseille, pour opérer le triage et l'isolement des levures par les méthodes biologiques, d'ensemencer méthodiquement des liquides dont la composition est peu favorable. Il faut varier les conditions de culture ; les procédés les plus commodes pour ce faire sont d'ordre chimique. Par exemple, on utilisera des solutions nutritives légèrement alcalines, soit l'équivalent de 150 ou 200 milligrammes d'ammoniaque par litre. Suivant le degré d'alcalinité, suivant la nature des corps empêchants (antiseptiques) ajoutés aux moûts, on obtiendra toute une série de cultures de levures différenciées par leurs réactions à ces divers milieux. Les levures isolées servent à de nouveaux triages basés sur les mêmes principes. Nous trouvons ici un premier cas d'utilisation de milieux alcalins et neutres.

L'alcalinité du milieu peut influencer la longévité de la levure. Duclaux fait remarquer que « lorsque des matières hydrocarbonées sont rares dans les milieux de conserve, la levure s'attaque aux matières azotées, les rend alcalines et se fait un milieu qui lui est de plus en plus défavorable ».

Qu'arrive-t-il lorsque l'on veut faire disparaître la réaction acide de la levure de bière ? D'après Dumas (cité par Duclaux), si l'on ajoute de l'eau de chaux, on reconnaît que la neutralité de la levure n'est que momentanée. La réaction acide se manifeste de nouveau en moins de cinq minutes et ce n'est qu'après trois ou quatre additions de la liqueur alcaline, amenant chaque fois une neutralité provisoire, que celle-ci devient un peu stable.

Il n'est pas aisé de neutraliser l'acidité de la levure de bière, tel est l'enseignement qui ressort de ces expériences. En est-il de même pour les moûts de bière, de vin, de cidre, etc. ? On nous excusera d'interrompre pour un instant notre exposé et de poser une question d'ailleurs en rapport avec notre présente note. La fabrication du vin et du cidre est pour ainsi dire nulle en Belgique ; il nous fut impossible de faire, avec ces milieux de culture naturels, les essais dont on trouvera l'exposé plus loin et qui ont trait au moût de bière. Peut-on rendre le moût de vin ou de cidre alcalin ? Cette question peut paraître surprenante. Evidemment, nous répondra-t-on, il suffit d'ajouter la quantité d'alcalin nécessaire ! Il se peut qu'il en soit ainsi, les différences entre les moûts de vin et de bière étant très réelles. On verra plus tard que cette question n'est pas aussi banale qu'elle le paraît au premier abord ; en tous cas, nous pouvons dire, dès à présent, qu'il n'est pas possible d'obtenir un moût de bière alcalin, c'est-à-dire un liquide qui, tout en conservant les propriétés fermentescibles et les caractères du moût de bière, soit en même temps alcalin. Si l'on

ajoute des bases au moût de bière, on réalise un moût alcalinisé dont les propriétés sont curieuses et méritent un examen attentif.

Le seul auteur, à notre connaissance, qui ait fait des expériences sur les milieux fermentescibles sucrés additionnés de bases est le grand chimiste Dumas. Un court aperçu de ses travaux se trouve dans le *Traité de Microbiologie* de Duclaux (t. 3, p. 483). Nous avons consulté les mémoires originaux de Dumas. Une première remarque à faire : c'est que Dumas ne fit pas usage de cultures pures, il expérimentait avec de la levure de brasserie. On pourrait donc, dès le début, objecter l'emploi de levure impure, mais remarquons qu'à ce moment les travaux de Pasteur sur la bière, les cultures pures n'avaient pas encore vu le jour et les idées de Pasteur étaient très discutées. Les premiers travaux de Hansen ne parurent que dix ans après les recherches de Dumas. On ne pourrait donc faire un grief à Dumas de ne pas avoir opéré avec des cultures pures. Ce que nous pouvons maintenant dire, c'est que la technique de Dumas, qui ne stérilisait pas ses milieux de culture, est une source d'erreurs, alors ignorées, et dont nous devons tenir compte. Nous ne pouvons donc accepter les conclusions de Dumas que sous réserves.

L'acidité de la levure est, d'après Dumas, égale à 3/1000 de son poids : 1 gramme de levure a une acidité correspondant à 0,003 d'acide sulfurique. Nous avons vu plus haut la difficulté que Dumas rencontra à neutraliser la levure. Il alcalinisa les milieux fermentescibles en se basant sur l'acidité de la levure, il ajouta 1, 2, 3, 4, 8, 16 et 24 fois l'équivalent d'acide sulfurique sous forme d'ammoniaque. Le milieu employé par Dumas se composait de sucre, d'eau et de levure. Les quantités ne sont pas indiquées de façon précise, mais d'après une expérience sur du carbonate de soude, analogue à celle faite avec l'ammoniaque, nous pensons que Dumas utilisa de l'eau sucrée au dixième (200 cc.) additionnée de 10 grammes de levure et de la quantité d'ammoniaque correspondant à l'acidité de la levure.

Les résultats constatés par Dumas sont les suivants : la fermentation s'est manifestée presque aussi vite et a marché aussi rapidement, au moins le premier jour, dans le ballon contenant quatre fois autant d'ammoniaque qu'en exigeait la saturation de l'acidité de la levure. Quand la dose d'ammoniaque s'élevait à 8 ou même 16 fois cette quantité, la fermentation s'est déclarée plus lentement, mais six heures ne s'étaient pas écoulées qu'elle se manifestait déjà. Quant au ballon qui avait reçu une quantité d'ammoniaque équivalant à 24 fois l'acidité de la levure, il n'a donné aucun signe de fermentation. Quant aux autres ballons,

dès les premières heures, la levure, formant une boue au fond des vases, avait repris son acidité et, dès le lendemain, la liqueur elle-même était devenue acide d'une manière très marquée dans ceux qui contenaient 1, 2 et 3 fois la quantité d'ammoniaque nécessaire pour neutraliser l'acide de la levure, et légèrement acide dans le vase où la dose de cet alcali était portée à 4 fois. Au delà de cette dose, les fermentations ont été très incomplètes. Elles se sont terminées lorsqu'il restait encore beaucoup de sucre dans la liqueur. On pouvait se demander si la présence de l'ammoniaque n'avait pas amené la production d'acide nitrique ou nitreux. Ni l'un ni l'autre de ces acides n'existaient dans les vases où l'acidité s'était le mieux manifestée. La levure paraît donc jouir du pouvoir de produire ou d'exhaler un acide qui neutralise les bases.

Si, au lieu d'ammoniaque, on neutralise l'acidité de la levure par l'eau de chaux, on observe des phénomènes analogues. Utilise-t-on au lieu de ces bases des substances saturant mal les acides, telles que l'oxyde de zinc, l'oxyde rouge de fer et même la litharge, la fermentation suivra son cours ; tout le sucre est détruit. Ainsi les alcalis (caustiques) tendent à arrêter la fermentation, mais ne la suppriment qu'autant que leur dose est assez forte. Il ne faut pas confondre, d'après Dumas, le pouvoir dont jouit la levure de produire ou d'exhaler un acide capable de neutraliser les bases dont elle est entourée, avec l'effet qui résulte de la neutralisation de ces bases par l'acide carbonique provenant de la fermentation alcoolique. En effet, si l'on ajoute du carbonate de soude (10 grammes pour 200 cc. de liqueur), on obtient la fermentation complète du sucre. Par contre, l'addition de 70 grammes de carbonate de soude entrave complètement la fermentation. Si, au lieu d'un carbonate soluble, on emploie du carbonate insoluble (de magnésie ou de chaux), la fermentation se produit avec formation de bicarbonate.

Dans ces expériences, Dumas ne considère que l'aspect chimique des phénomènes ; il ne fait pas intervenir l'action de l'organisme vivant qu'est la levure, autrement que pour lui faire exhaler un acide neutralisateur. On peut comprendre ce qui s'est passé. Quand les doses d'alcali caustique sont trop fortes, la levure est tuée, il n'y a pas de fermentation. Si l'on emploie le carbonate de soude à forte dose, l'arrêt de la fermentation résulte peut être d'actions osmotiques. Dans le cas des carbonates insolubles ou des carbonates solubles peu concentrés, comme dans le cas où la levure réussit à vivre, l'acidité produite par la vie de

la levure rétablit les conditions de milieux compatibles avec une fermentation normale.

Faisons remarquer que Dumas ne signale aucune action des alcalis sur le sucre au cours de ses expériences.

La question de l'alcalinité des milieux favorables aux levures n'a guère préoccupé les chercheurs. Les renseignements expérimentaux les plus récents et les seuls que nous ayons trouvés sont fournis par Mazé (1). Il utilisa pour l'étude des levures de lactose du bouillon Martin additionné de 10 % de lactose, le tout a été essayé acide, additionné d'acide lactique (0,773 pour 1000) et alcalin (0,3 pour 1000 de NaOH). Mazé constata que la fermentation est plus rapide en milieu alcalin qu'en milieu acide. En milieu alcalin, l'acidité produite est plus forte, le rendement en alcool plus élevé. Au lieu de soude, Mazé utilisa aussi du carbonate de sodium. Toutes les levures étudiées par Mazé font fermenter le lactose dans le bouillon Martin en présence de 0,88 pour 1000 de soude (à l'état de carbonate), tandis qu'aucune d'elle ne se développe en présence de 1,1 pour 100 de soude (carbonate).

Si la levure se développe dans le milieu alcalin de Mazé, elle finit toujours par faire fermenter le lactose; par suite de son développement, l'alcalinité diminue et la levure atténue par conséquent l'influence nocive de la réaction. Ainsi donc, Mazé considère la réaction alcaline comme nuisible. D'après Will, l'alcali se combine aux acides dégagés par la levure au cours de la fermentation (c'est l'opinion déjà émise par Dumas) ; elle rétablit ainsi la réaction qui est le plus en rapport avec son développement normal. Remarquons que le milieu utilisé par Mazé est le bouillon Martin et non le moût, ni une liqueur sucrée telle que celle de Dumas.

On sait que le bouillon alcalin, généralement utilisé en bactériologie, conserve bien son alcalinité ; nous montrerons qu'il n'en est pas de même pour le moût de bière. Pour éviter toute interversion du lactose. Mazé ne stérilisa pas ; il filtra sur bougie Chamberland ; c'est là une précaution judicieuse. L'alcalinité du milieu préconisée par Mazé est faible ; il est probable, quoique cela ne soit pas démontré, que l'alcali ait pu agir sur le lactose. Pourtant on pourrait objecter à Mazé qu'il n'a pas dosé le lactose dans son milieu prêt à l'ensemencement ; nos recherches

---

(1) P. Mazé, *Quelques nouvelles races de levure de lactose. (Annales de l'Institut Pasteur*, 1903, t. 17, p. 11.)

nous ont montré que l'alcalinité modifie les sucres du moût de bière, même à froid. La question peut donc être posée.

D'après Will, la réaction alcaline des milieux est compatible avec le développement d'un certain nombre de Torulacées. Le même auteur, en 1907, indique qu'une espèce voisine de *Mycoderma* consomme les acides et rend les milieux de culture neutres.

Les quelques renseignements bibliographiques que nous avons pu réunir sont les uns expérimentaux, les autres de vues théoriques ou mieux spéculatives. Les résultats expérimentaux (Dumas, Mazé) ont été obtenus avec des milieux sucrés spéciaux ; aucune expérience d'alcalinisation n'a été faite avec le moût de bière. Les levures étudiées par Mazé sont très spéciales et diffèrent typiquement des levures ordinaires étudiées par Dumas. Quant aux vues théoriques, elles sont déduites des considérations que nous avons exposées au début de cette note sur le rôle biologique de l'acidité des milieux naturels ou industriels favorables aux levures. Duclaux, après avoir relaté les expériences de Dumas, se demande si les résultats obtenus par ce savant ne sont pas dus à une action de diastase. On sait en effet que la sucrase n'agit pas dans un milieu un peu alcalin, mais il y a cette circonstance curieuse que la levure peut produire ou excréter un acide capable de neutraliser les bases dont elle est entourée et cela dans une certaine mesure en proportion de l'effet à produire. Tous les auteurs admettent donc que les levures combattent l'alcali en produisant un ou des acides auxquels est dévolu une sorte de rôle antagoniste et protecteur.

Si la question des fermentations en milieux alcalins ou alcalinisés a été peu étudiée jusqu'ici, celle qui se rapporte à l'action des alcalis sur les sucres a fait l'objet de nombreuses publications, dont on trouvera un aperçu dans un livre de Harden (1) et, plus récemment, dans un mémoire de Fernbach et Schoen.

Les chimistes ont étudié la question de l'action des alcalis sur les sucres, spécialement les hexoses. Ils en ont tiré des conclusions intéressantes au sujet de la composition moléculaire de ces substances. Toutes les recherches nous indiquent que les alcalis décomposent plus ou moins les sucres ; en solution neutre, on n'observe pas ces transformations. L'action des alcalis est complexe, les sucres se transforment en une série de corps de plus

(1) Arthur HARDEN, *La fermentation alcoolique*. — Questions biologiques actuelles, collection de monographies publiées sous la direction de M. A. Dastre. Paris, 1913.

en plus simples. Au début, on constate la formation de corps voisins et isomères des sucres, le pouvoir rotatoire des hexoses est abaissé. Si l'action des alcalis est prolongée, il se produit des décompositions plus profondes avec formation d'acide lactique inactif, d'acide formique et un mélange complexe d'hydroacides contenant 6 et 4 atomes de carbone dans leur molécule. On a aussi constaté la formation d'alcool et d'acide carbonique, fait signalé la première fois par Duclaux. Harden écrit que l'idée qui prévaut est que, par l'action des alcalis sur le sucre, il se forme comme premier produit de l'adéhyde glycérique, qui passe à l'état de méthylglyoxal, puis finalement d'acide lactique. Toutes ces réactions peuvent se produire à la température ordinaire, en présence d'un catalyseur, et ressemblent ainsi à celles que produisent les Levures et les Bactéries.

On fait varier les phénomènes de décomposition en opérant à froid et à chaud. Le choix du sucre sur lequel agit l'alcali importe, car les produits formés sont variables suivant les sucres employés. Il n'est pas indifférent d'employer l'un ou l'autre alcali ; la potasse et la soude agissent de façon analogue ; Duclaux a montré que l'eau de chaux ou de baryte ne produit pas la formation d'alcool, mais transforme 50 % de sucre en acide lactique inactif. L'hydroxyde de zinc en présence d'ammoniaque transforme le glucose en méthyliminazol.

En 1914, MM. Fernbach et Schoen (1) publient une étude sur la décomposition du dextrose en milieu alcalin. Ils font un exposé historique très documenté de la question et étudient l'action du carbonate sodique sur le glucose. Ils constatent la production d'acide acétique. Ces auteurs pensent que l'acide acétique ne se forme pas directement, mais résulte d'actions complexes, provoquées par des composés, servant d'intermédiaires, pouvant dériver de l'acide pyruvique ou de l'aldéhyde pyruvique (glyoxal). Déjà auparavant, on avait signalé que la décomposition des sucres en milieu alcalin donne lieu à des résines très compliquées. Ce sont d'ailleurs ces composés résineux mal définis qui communiquent leur couleur brune intense aux solutions alcalines des sucres. Le groupe pyruvique jouerait dans ces actions un rôle essentiel : il peut donner par oxydation de l'acide acétique, de l'acide formique qui, par son action réductrice, permet d'expliquer la formation d'alcool éthylique, enfin de l'aldol (aldéhyde

(1) A. Fernbach et M. Schoen. *Sur quelques produits de la décomposition du dextrose en milieu alcalin.* (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1914, t. 28, pp. 692-713.)

β oxybutyrique). L'acide pyruvique peut d'ailleurs également donner naissance à de l'acide lactique. Cette théorie permet de concevoir comment il se fait que l'action des alcalins sur les sucres fournit toute une série de corps organiques variés sur la genèse desquels on n'a que des indications. Un fait certain, c'est que suivant le mode opératoire, les matières premières utilisées, on obtient entre autres de l'acide acétique, de l'acide lactique, des composés butyrique, de l'alcool, de l'acide formique, etc.

On comprend que si l'on considère l'action des alcalis sur un milieu aussi complexe que le moût de bière, il devient impossible de prévoir les transformations qui s'y produiraient. Car, outre les sucres divers, le moût de bière renferme des acides, des matières azotées variées, toutes substances qui réagissent en présence des alcalis. L'étude des transformations des sucres simples par les alcalis est difficile et n'a été entreprise que récemment avec succès ; on ne peut donc s'attendre à voir résoudre la question compliquée de l'alcalinisation du moût de bière. Aussi nous bornerons-nous à donner quelques indications sur ce qui se passe dans ces milieux. Nos recherches ayant été au début tournées vers un problème biologique, nous donnons, d'une manière générale, les constatations que nous avons faites sur les caractères du moût de bière alcalinisé.

Ainsi que nous venons de le dire, notre but primitif était biologique : étudier la marche de la fermentation de quelques levures en moût alcalin et les modifications de formes en rapport avec ces conditions, que nous exposerons en détail dans un autre travail. Le côté chimique de la question était donc à l'arrière-plan dans nos recherches, mais un examen attentif nous montra bientôt tout l'intérêt qu'il faut attacher au point de vue chimique.

Le moût de bière que nous avons utilisé provenait d'une brasserie de Bruxelles (bière de fermentation haute). Après clarification, il fut stérilisé à l'autoclave à 120° pendant un quart d'heure. Son acidité évaluée en soude dixième normale était de 50 cc. pour 100, l'extrait à 100-105° était de 8,27 pour 100, la quantité des sucres réducteurs (par la liqueur de Fehling) est de 7,6 pour 100. Nous avons alcalinisé ce moût dans des proportions variées. Pour avoir une base d'étude, nous avons pris l'acidité du moût et, en ajoutant les quantités nécessaires de lessive alcaline, nous avons composé des liqueurs neutres, dix et vingt fois alcalines. C'est-à-dire que nous avons ajouté au moût des quantités d'alcali correspondant à 50, 500 et 1,000 cc. de soude dixième normale. Pour ne pas trop diluer le moût, l'addition d'alcali (potasse caustique) a été faite sous forme de lessive

double normale. Après addition de l'alcali, les milieux furent restérilisés de la même manière et en même temps que le moût de bière acide original.

Dans ces conditions, le moût de bière acide conserve son aspect normal, il est clair, limpide. Les autres milieux sont profondément modifiés, ils prennent une couleur brune d'autant plus intense qu'il y a plus de potasse ajoutée ; ils sont troubles et ont une odeur prononcée rappelant le caramel. Le moût neutre est celui qui a les caractères les plus voisins de ceux de moût acide ; c'est à peine si l'on observe un louche léger du liquide, il n'y a pas de dépôt formé. L'examen chimique montre que ce liquide a conservé sa neutralité et que la quantité des sucres réductibles n'a guère changé.

Le moût dix fois alcalin a une réaction fortement acide, puisque son acidité correspondait à 15 cc. de soude double normale. Le liquide est très trouble, de couleur brun-foncé et forme un dépôt léger après plusieurs mois. Il a une odeur de caramel. La quantité des sucres réducteurs, qui n'avait guère été modifiée dans le moût neutre, est fort réduite. On n'observe plus qu'un faible précipité par l'action de la liqueur de Fehling.

Le moût vingt fois alcalinisé présente des caractères plus tranchés que le précédent ; son aspect est très foncé ; il est trouble et fortement odorant. L'acidité du moût vingt fois alcalin est la même que celle du milieu dix fois alcalin ; la liqueur de Fehling n'a donné aucun précipité, il y a donc absence de sucres réducteurs. Le trouble du liquide finit par donner un dépôt après plusieurs mois ; ce dépôt renferme des cristaux en grand nombre.

Ces premières constatations montrent combien profonde est la modification du moût de bière additionné d'alcali et stérilisé à l'autoclave. C'est ce milieu qui nous a servi pour l'étude de la fermentation des levures dont les résultats sont consignés plus loin.

L'exposé des travaux théoriques de l'action des alcalis sur les sucres nous permet de saisir le pourquoi des phénomènes observés dans les moûts alcalinisés, et s'il ne nous donne rien de précis pour le moût de bière, il nous met pourtant à même de comprendre l'ensemble des phénomènes, la production d'acide et la disparition des sucres. Tandis que le moût neutralisé est resté neutre, les moûts alcalinisés ont manifesté une réaction acide. Par distillation fractionnée, nous avons essayé de nous faire une idée des acides formés ; nous avons constaté entre autres la présence de sensibles quantités d'acide acétique et d'acide butyrique dans les distillats. On sait, par la littérature, la complexité des

décompositions des sucres en présence d'alcali ; la séparation de tous les composés obtenus dans les moûts alcalinisés dix et vingt fois était en dehors du programme que nous nous étions tracé ; aussi avons-nous réservé cette recherche.

Les moûts alcalinisés avaient, nous l'avons dit, été stérilisés à l'autoclave après addition de potasse. Il était naturel d'attribuer à la température une influence prépondérante dans la production des phénomènes que nous venons d'esquisser. En réalité, il en est bien ainsi ; le chauffage à 120° active les réactions modificatrices des moûts alcalinisés. Qu'arrive-t-il si l'on ajoute, à froid, de l'alcali au moût stérile, en prenant les précautions nécessaires pour éviter toute infection des milieux ? Ajoutons au moût de bière analysé précédemment les mêmes quantités d'alcali (potasse) que ci-devant pour réaliser des milieux liquides dix et vingt fois alcalin. Quatre jours après le mélange, les solutions sont fortement troubles. Le milieu dix fois alcalin a une réaction alcaline correspondant à 2,5 cc. d'acide sulfurique normal ; la quantité des sucres réducteurs évalués par la liqueur de Fehling est de 6,80 pour 100. Le milieu vingt fois alcalin a une réaction alcaline correspondant à 3 cc. d'acide sulfurique normal ; la quantité des sucres réducteurs est tombée après quelques jours à 4,62 pour 100. Macroscopiquement les moûts alcalinisés à froid diffèrent beaucoup moins du moût normal acide que les mêmes moûts alcalinisés soumis au chauffage. Ils sont limpides et ne présentent qu'un trouble peu prononcé, même après un long temps. C'est tout au plus si l'on constate, après quatre à cinq mois, la formation d'un léger dépôt dans le moût dix fois alcalin et un précipité cristallin peu important dans le moût vingt fois alcalin.

Il est évident, à première vue, qu'il est difficile de réaliser un moût alcalin. Cela devient tout à fait impossible si l'addition de la quantité nécessaire d'alcali est suivie d'un chauffage. Il faut opérer à froid et ajouter la lessive alcaline concentrée au moût stérilisé. Même dans ces conditions, on ne tarde pas à constater des modifications profondes des liquides portant sur tous leurs caractères principaux : alcalinité, teneur en sucres. Les moûts alcalinisés à froid sont moins alcalins que ne le ferait penser l'addition d'alcali ; ils renferment aussi une quantité moindre de sucres réducteurs. La disparition du sucre est en rapport avec ce que nous avons appris par l'étude théorique des sucres purs traités par les alcalis.

Un fait remarquable est de constater que les moûts exactement neutralisés conservent, qu'ils soient chauffés ou non, leurs

caractères intacts .On obtient par la neutralisation un milieu de composition stable.

Telles sont les principales constatations auxquelles nous ont conduit l'étude sommaire des moûts alcalinisés. Elles nous ont permis d'entreprendre, grâce à l'obligeance de M. Lejeune, une étude plus approfondie des modifications des moûts alcalinisés. Cette étude a été faite, non sur le moût de bière, mais sur un liquide analogue que nous dénommons, pour la facilité, le *farhydre* (farine hydrolysée). Il est composé comme suit : on met 10 grammes de farine d'orge dans 10 cc. d'eau ordinaire. On y ajoute 2,5 grammes de carbonate de chaux, on filtre ; on ajoute à nouveau 0,5 gramme de craie ; apres une nouvelle filtration, la liqueur est répartie et stérilisée à 120° C. Ce milieu a des caractères très voisins du moût de bière ; il est favorable pour la culture des levures. Il a été fait deux séries d'essais : l'une comprend les moûts alcalinisés avant stérilisation (série A) ; l'autre, les moûts alcalinisés après stérilisation de la liqueur à l'autoclave (série B). L'addition d'alcali (soude caustique normale : 40 gr.06 de soude dans 100 cc. d'eau) se fait dans les proportions suivantes : à 250 cc. de liquide farhydre, on ajoute 3,5, 13, 23, 33 centimètres cubes de soude, ce qui nous fournit les milieux « farhydre 3,5 », « farhydre 13 », etc.

On a pratiqué les recherches suivantes : dosage de l'extrait, polarisation, pouvoir rotatoire spécifique, sucres réducteurs, dextrines, sucres totaux et l'acidité.

Afin de tenir compte de la dilution des moûts occasionnés par les additions variables d'alcali, les volumes avant analyse sont portés de 200 cc. (quantité mise en expérience pour chaque essai) de moût stérilisé à 300 cc. ; on corrige les résultats analytiques en conséquence.

Extrait sec.

Vingt-cinq centimètres cubes de moût sont évaporés au bain-marie. Le résidu est séché à l'étuve à 100° C. jusqu'à poids constant. Les résultats sont donnés pour 100 cc. de moût original. On corrige l'extrait ainsi obtenu, en retranchant la quantité de soude pour 100 cc. des divers milieux alcalinisés. Les extraits corrigés sont donnés dans les tableaux suivants :

EXTRAIT CORRIGÉ.

Série A. Moût additionné de soude puis stérilisé.

	Analyse immédiatement après la stérilisation.	Analyse 10 jours plus tard.
Farhydre témoin.	8.01	7,98
Farhydre 3,5	8,16	8.09
— 13	8.25	8,14
— 23	8,06	7,95
— 33	8,04	7,90

Série B. Moût stérilisé puis additionné de soude.

	Analyse immédiate.	Analyse après 10 jours.
Farhydre témoin.	7,47	8,00
— 8,5	7,32	7,51
— 13	7,15	7,47
— 23	7,10	7,20
— 33	7,06	7,68

Si l'on examine les résultats, on constate de grandes différences relatives dans les extraits des deux séries A et B. Chose remarquable pour la série A, les extraits, après dix jours, sont toujours inférieurs aux extraits immédiats. Cette différence est minime, il est vrai, puisqu'elle s'étend de 0,03 à 0,14 pour 100. Au contraire, pour la série B, les extraits, après dix jours, sont toujours supérieurs aux extraits immédiats. L'examen des courbes exprimant ces phénomènes montre que les différences constatées semblent régies par certains rapports à déterminer. Nous basant sur les chiffres expérimentaux, nous trouvons pour la série A, entre les extraits immédiats et après dix jours, les différences suivantes :

Série A :

Farhydre	0,03 %
— 3.5	0,07 %
— 13	0,11 %
— 33	0,14 %
— 23	0,11 %

Cela indique que pour les milieux stérilisés après alcalinisation, la diminution de l'extrait après dix jours est d'autant plus

forte qu'il y a eu plus d'alcali ajouté. En tout cas, ces différences sont minimes puisqu'elles varient enntre 0,03 et 0,14 pour 100. On peut donc conclure que ces milieux ont subi après dix jours une très faible diminution de la quantité d'extrait.

Si nous considérons maintenant, pour la même série A, l'amplitude de variation des extraits immédiats, nous trouvons qu'elle est de 0,24 pour 100. Elle est identique pour les extraits après dix jours. Les courbes obtenues pour les extraits immédiats et ceux après dix jours ont la même allure : elles présentent un sommet correspondant au farhydre 13. En deça de cette concentration sodique, on observe l'augmentation progressive de l'extrait corrélativement à l'addition d'alcali. Au delà, il y a diminution de plus en plus grande de l'extrait. Nous savons que le milieu a subi l'action d'un chauffage énergique sous pression ; l'alcali, dans ces conditions, hydrolyse les divers sucres du milieu et l'on peut parfaitement imaginer que cette hydrolyse est d'autant plus forte qu'il y a plus d'alcali. Or l'hydrolyse amène la perte de poids des sucres, il se produit de l'eau par la réaction. Cette eau est évaporée lors de l'extraction et cela expliquerait la diminution de la quantité d'extrait des milieux farhydre 23 et 33 par rapport à farhydre 13. D'autre part, nous constatons que l'extrait des liquides farhydres alcalins est supérieur à celui du liquide farhydre témoin. Cette augmentation est surtout marquée pour farhydre 3,5 et farhydre 13, c'est-à-dire pour les milieux les moins alcalinisés. L'explication de ce phénomène est peut-être la suivante : le moût original est acide, il renferme des acides organiques et peut-être inorganiques. L'addition de soude forme avec ces divers acides des sels sodiques qui, lors de l'extraction, cristallisent et absorbent une certaine quantité d'eau de cristallisation. Si nous comparons donc l'extrait du moût original et l'extrait alcalinisé, nous trouvons dans ce dernier des sels sodiques en plus, ce qui nous donnera une augmentation apparente de l'extrait. Tant qu'il y a des acides se combinant à la soude, l'alcalinisation produit une augmentation de l'extrait ; mais, outre sa fonction basique, la soude exerce une action hydrolysante ; plus il y a de soude et plus l'hydrolyse est forte. Or l'hydrolyse se traduit par une perte d'eau enregistrée lors de l'extraction ; ajoutons qu'il se produit, par suite des réactions, des acides volatils dont la disparition aura également une influence sur les résultats trouvés pour les extraits. Suivant que l'action de la soude est basique ou hydrolysante, on enregistre pour l'extrait une augmentation ou une diminution de poids ; ces deux actions, en se combinant, en prenant une pré-

pondérance alternative l'une sur l'autre selon la quantité d'alcali, expliqueraient l'allure générale de la courbe observée pour la série A.

En ce qui concerne la série B, où l'addition de soude s'est faite après stérilisation du liquide farhydre, les phénomènes ont une allure tout autre. Ici le chauffage n'intervient plus pour activer les réactions chimiques. L'extrait sec corrigé immédiat donne une courbe descendante concave; plus il y a d'alcali ajouté et moindre est l'extrait. L'amplitude de la chute est de 0,41 pour 100. Cette chute est rapide pour une faible alcalinisation et lente pour une forte alcalinité. Ce phénomène paraît régulier et soumis à une loi dont l'explication nous échappe. Comparons les extraits de la série B faits après dix jours avec les précédents : nous constatons qu'il y a d'une façon constante augmentation de l'extrait; nous verrons plus loin que ces liquides alcalinisés ont une réaction alcaline. L'augmentation de poids des extraits alcalinisés corrigés peut très bien s'expliquer par la carbonation de la soude par l'acide carbonique de l'air. Or, pour faire la correction de l'extrait, on a soustrait de l'extrait constaté la quantité correspondante en soude caustique dans chaque milieu. Il se fait qu'après dix jours, le milieu renferme en même temps que la soude caustique, du carbonate de soude dont l'acide carbonique est compté dans l'extrait.

La fixation de CO^2 étant irrégulière par les divers liquides, il n'est pas étonnant qu'on trouve là des variations dans les résultats.

POLARISATION.

On introduit 50 cc. de liquide dans un ballon gradué de 100 cc., on ajoute quelques centimètres cubes de sous-acétate de plomb; on porte au volume de 100 et on polarise au saccharimètre de Schmidt et Haensch dans un tube de 20 centimètres. La lecture faite donne le degré polarimétrique par multiplication du chiffre par 0,346.

Les valeurs obtenues pour les degrés polarimétriques des divers milieux sont données dans les tableaux suivants :

Degrés polarimétriques. — Analyse immédiate.

	Série A.	Série B.
Farhydre témoin.	4°39	4°41
— 3,5	3°46	3°90
— 13	1°56	3°75
— 23	1°45	3°63
— 33	0°90	3°36

Degrés polarimértiques. — Analyse après dix jours.

	Série A.	Série B.
Farhydre témoin	4°43	3°78
— 3,5	3°90	3°46
— 13	1°77	3°32
— 23	1°38	3°11
— 33	0°83	2°57

Si nous traduisons ces chiffres par des courbes, on voit que les degrés polarimétriques se groupent pour chacune des deux séries A et B de façon bien différente. Tandis que pour la série A le degré polarimétrique diminue rapidement et d'autant plus que l'alcali est ajouté en quantité plus considérable, on observe pour la série B une diminution beaucoup plus faible du degré polarimétrique. Si l'on analyse les moûts après dix jours, on trouve que pour la série A, il n'y pas eu de changements notables dans les valeurs des degrés polarimétriques. La courbe obtenue après dix jours a la même allure. Il n'y a pas de changement. Au contraire, pour la série B, on observe une diminution nette du degré polarimétrique. Les différences entre les degrés polarimétriques immédiats et après dix jours sont d'autant plus grandes qu'il y a plus d'alcali ajouté au milieu.

Si l'on se base sur les degrés polarimétriques pour calculer la maltose des divers milieux, on obtiendra des courbes analogues à celles que nous venons de donner. De même pour le pouvoir rotatoire spécifique calculé d'après la formule $\frac{a \times 100}{E}$ dans laquelle *a* est le degré polarimétrique et E l'extrait sec pour 100 cc. Il nous paraît inutile de donner les chiffres se rapportant au maltose et au pouvoir rotatoire spécifique, les courbes qu'ils donnent ayant les mêmes caractères que ceux présentés par les courbes fournies par la polarisation. Nous les retrouverons à propos de l'étude des divers sucres des milieux.

Sucres.

La détermination des sucres a porté sur les sucres réducteurs et les sucres totaux ainsi que sur les dextrines évaluées par différence entre les deux premières catégories d'hydrates de carbone.

Sucres réducteurs. — On introduit, dans un ballon gradué de

250 cc., 25 cc. de moût et l'on porte au volume. On dose sur 25 cc. les sucres réducteurs à la liqueur de Fehling par pesée du Cu O. Le résultat de la pesée calculé en cuivre correspond, d'après les tables d'Allihn, à une teneur de glucose qui est rapportée à 100 cc. du moût primitif.

L'évaluation des *sucres totaux* se fait comme suit : 25 cc. de moût sont introduits dans un ballon gradué de 250 cc. ; on ajoute 8 cc. d'acide chlorhydrique concentré et 100 cc. d'eau. On chauffe pendant deux heures et demie au bain-marie bouillant, en munissant le ballon d'un tube à récoholation. On porte à 250 cc. et l'on dose, comme il a été dit pour les sucres réducteurs, par la liqueur de Fehling. On obtient les *dextrines* en multipliant par 0,9 la différence entre les sucres totaux et les sucres réducteurs évalués en glucose. Pour faciliter la comparaison entre les sucres totaux et les sucres réducteurs, nous conservons les évaluations en glucose. Un simple calcul donnera, d'ailleurs, la valeur réelle des sucres réducteurs en maltose.

Sucres totaux. — Les analyses immédiates et après dix jours ont fourni pour la série A (addition de soude puis stérilisation) les valeurs suivantes :

Série A : Sucres totaux (en glucose).

Milieux.	Immédiatement.	Après 10 jours.
Farhydre	6,08	6,30
— 3,5.	6,09	6,00
— 1,3.	4,20	4,78
— 23	4,40	4,59
— 33	3,90	3,92

Plus on a ajouté d'alcali et moins il y a de sucres. La destruction du sucre apparaît surtout forte pour les quantités de soude allant de 3,5 à 13. Pour une alcalinisation plus forte, la diminution de la quantité des sucres est relativement faible. Après dix jours, la courbe obtenue a dans son ensemble la même allure que pour l'analyse immédiate, seulement, fait curieux, on observe que, sauf pour le milieu farhydre 3,5 où il y a égalité, les quantités totales de sucres après dix jours sont plus fortes que dans l'analyse immédiate.

Si nous considérons les sucres réducteurs (maltose), nous trouvons, ainsi que l'indique le tableau suivant, des valeurs qui se groupent comme suit :

Série A : Sucres réducteurs (en glucose).

Milieux	Immédiatement.	Après 10 jours.
Farhydre	5,45	5,25
— 3,5.	5,53	5,16
— 13,0.	3,85	4,62
— 23,0.	3,94	4,28
— 33,0.	?	3,92

L'analyse immédiate nous fournit une courbe sensiblement parallèle à celle des sucres totaux. Les différences entre ces deux courbes sont dues aux dextrines. Comme pour les sucres totaux, nous voyons que la diminution des quantités de sucres réducteurs est en rapport direct des quantités de soude ajoutées. Si maintenant nous considérons les résultats analytiques après dix jours, nous voyons que pour les milieux fortement alcalinisés, il y a augmentation des quantités de sucres réducteurs par rapport à l'analyse immédiate. Pour les milieux neutres ou faiblement alcalinisés, il y a une faible diminution des sucres réducteurs. L'explication des phénomènes nous sera donnée par l'examen des quantités de dextrine immédiates et après dix jours. Elles se trouvent détaillées dans le tableau suivant :

Série A : Dextrines (en glucose).

Milieux.	Immédiatement.	Après 10 jours.
Farhydre	0,63	1,05
— 3,5.	0,67	0,84
— 13,0.	0,35	0,16
— 23,0.	0,46	0,31
— 33,0.	Traces (?)	0,00

D'une manière générale, on observe une diminution des quantités de dextrine en rapport avec les quantités d'alcali ajoutées. L'analyse immédiate montre que les différences entre les quantités de dextrine pour les divers milieux sont comparativement moins fortes que celles enregistrées pour les sucres totaux et réducteurs.

Pris isolément, les résultats indiqués par ces tableaux ne fournissent que des indications sur la marche générale du phénomène. En les combinant entre eux, nous trouverons les rap-

ports qui existent entre les sucres totaux, les sucres réducteurs et les dextrines.

Considérons les différences en plus ou en moins entre les analyses immédiates et celles après dix jours pour les diverses catégories de sucres. Nous obtenons ainsi après le dixième jour :

Série A : Différences entre les analyses immédiates et après dix jours.

Milieux.	Pour les sucres totaux.	Pour les sucres réducteurs.	Pour les dextrines.
Farhydre . . .	+0,22	—0,20	+0,38
— 3,5.	0,00	—0,17	+0,17
— 13,0.	+0,58	+0,77	—0,19
— 23,0.	+0,19	+0,34	—0,15
— 33,0.	+0,02	?	?

Cela indique que, sous l'action des alcalis, il y a augmentation des sucres totaux évalués en glucose et que cette augmentation résulte de la décomposition des sucres composants. Cette décomposition se fait dans des conditions très différentes suivant qu'il y a plus ou moins d'alcali ajouté. Pour les milieux acides et neutre, il y a disparition d'une partie des sucres réducteurs ; au contraire, pour les milieux alcalinisés, il y a augmentation de la quantité de sucres réducteurs. Les dextrines diminuent en quantité dans les milieux alcalins ; elles augmentent dans les milieux acides et neutre. Les résultats analytiques indiquent que l'augmentation de la quantité des sucres totaux après dix jours est due, pour les milieux acides et neutre, aux dextrines ; tandis que pour les milieux alcalins, elle est due aux sucres réducteurs qui se sont formés aux dépens des dextrines.

Il est intéressant de constater que les alcalis peuvent agir en sens tout à fait divergent sur les sucres suivant qu'ils sont ajoutés en faible quantité (milieu neutre) ou à fortes doses (farhydre 13 et 23). Cela vient donner un argument de plus à l'idée que nous émettions lors de la discussion des résultats obtenus, pour l'extrait sec, sur l'action neutralisante ou hydrolysante de la soude.

Voyons maintenant le résultat de l'alcalinisation sur les sucres pour la série B (alcalinisation après stérilisation).

Série B : Sucres totaux (en glucose).

Milieux.	Immédiatement.	Après 10 jours.
Farhydre	5,56	5,70
— 3,5.	5,40	—
— 13,0.	5,29	5,37
— 23,0.	5,31	—
— 33,0.	5,25	4,92

L'addition d'alcali agit immédiatement en diminuant la quantité des sucres totaux, mais cette diminution est beaucoup moins accentuée que pour la série A. La disparition du sucre est d'autant plus forte qu'il y a plus d'alcali ajouté.

Après dix jours, la courbe s'est modifiée : on constate pour l'ensemble qu'il y a d'autant plus de sucres totaux dans le milieu qu'il y a moins d'alcali ajouté. De plus, il y a augmentation de la quantité des sucres pour les milieux acide et moyennement alcalin, tandis qu'il y a diminution pour le milieu très alcalin qu'est farhydre 33.

Examinons les sucres réducteurs : on a les chiffres suivants :

Série B : Sucres réducteurs (en glucose).

Milieux.	Immédiatement.	Après 10 jours.
Farhydre	4,68	4,71
— 3,5.	4,60	—
— 13,0.	4,51	4,38
— 23,0.	4,36	—
— 33,0.	4,33	4,28

Comme pour les sucres totaux, l'analyse immédiate montre que les sucres réducteurs diminuent un peu par l'addition d'alcali. La diminution observée est en tout cas beaucoup moindre que celle observée pour la série A.

Après dix jours, la quantité de sucres réducteurs a faiblement augmenté pour le milieu acide, tandis qu'elle a encore diminué pour les milieux alcalins.

Quant aux dextrines, elles ont donné les résultats suivants :

Série B : Dextrines (en glucoses).

Milieux.	Immédiatement.	Après 10 jours.
Farhydre	0,88	0,99
— 3,5.	0,80	—
— 13,0.	0,78	0,99
— 23,0.	0,95	—
— 33,0.	0,92	0,61

L'analyse immédiate montre que les quantités de dextrines trouvées varient peu. Elles diminuent en quantité pour une alcalinisation faible (milieu neutre et farhydre 13), elles augmentent quelque peu pour les milieux plus alcalinisés.

Après dix jours, on constate une augmentation assez sensible pour les milieux acide et moyennement alcalin. D'autre part, le milieu fortement alcalin est moins riche en dextrines.

Refaisons pour cette série B les calculs que nous avons fait pour la série A et donnons les différences en plus ou en moins observées après dix jours pour les diverses catégories de sucres évalués en glucose. On obtient :

Série B : Différences entre l'analyse immédiate et après dix jours.

Milieux.	Pour les sucres totaux.	Pour les sucres réducteurs.	Pour les dextrines.
Farhydre . . .	+0,14	+0,03	+0,11
— 13,0. .	+0,08	—0,13	+0,21
— 33,0. .	—0,33	—0,05	—0,28

L'augmentation constatée pour les sucres totaux du milieu acide résulte de l'augmentation faible des sucres réducteurs et d'une augmentation plus forte de dextrines. Pour le milieu moyennement alcalinisé, l'augmentation des sucres totaux est due à celle des dextrines, au contraire, il y a eu disparition des sucres réducteurs. Enfin, pour le milieu très alcalinisé, la diminution des sucres totaux résulte de la somme des pertes en sucres réducteurs et en dextrines.

Si nous comparons entre elles les séries A et B, nous voyons combien la manière d'ajouter l'alcali influe sur les résultats obtenus pour un même milieu, cela indépendamment de l'action

qu'exercent les alcalis, suivant qu'ils sont ajoutés en quantités plus ou moins grandes.

Pour pouvoir suivre les phénomènes de fermentation dans les moûts alcalinisés ou alcalins, il est important de tenir compte des divers éléments fournis par l'analyse chimique et qui doivent avoir un retentissement sur la végetation des ferments. Il nous reste, pour avoir une idée d'ensemble des milieux que nous avons essayés, à étudier la réaction des liquides.

Réaction des milieux.

La réaction est déterminée en soude dixième normale ou acide sulfurique dixième normale pour 100 cc. de moût primitif. L'alcalinité fixée est calculée en retranchant de l'alcalinité introduite, l'acidité réelle du moût témoin et d'alcalinité titrée. On opère de façon analogue pour évaluer l'acidité fixée.

Pour déterminer l'acidité, on neutralise 50 cc. de moût, jusqu'à très faible alcalinité, avec de la soude dixième normale en employant le papier de tournesol comme indicateur. Les résultats sont donnés pour 100 cc. de moût.

La série A (stérilisation après alcalinisation) a donné à l'analyse immédiate une réaction acide pour tous les milieux. Après dix jours, l'acidité constatée en soude dixième normale était pour les milieux :

Farhydre	. . . . .	0,0066	**gr.** NaOH.
—	3,5.	0,0027	— —
—	13,0.	0,00315	— —
—	23,0.	0,00345	— —
—	33,0.	0,00525	— —

L'addition d'alcali dans les conditions de l'essai a pour résultat de donner des moûts acides. Le moût alcalinisé le moins acide est le moût farhydre 3,5. L'acidité s'eleve au fur et à mesure qu'il y a plus de soude ajoutée, mais elle n'est pas en proportion de l'addition d'alcali. Si l'on calcule l'acidité formée, on obtient :

Farhydre	3,5.	0,01010	gr. NaOH.
—	13,0.	0,04855	— —
—	23,0.	0,08885	— —
—	33,0.	0,13065	— —

La production d'acide par le moût se fait aux dépens des sucres. Il doit certainement y avoir une relation entre cette production d'acides et la décomposition graduelle des sucres, sur

laquelle nous avons déjà donné des indications. Pour avoir des idées précises sur ces phénomènes, les données analytiques qui nous ont été fournies étaient insuffisantes. Quoi qu'il en soit, le problème mérite qu'on s'y arrête et que cette question soit étudiée à un point de vue exclusivement chimique.

Ajoute-t-on la soude après la stérilisation (série B), on obtient un tout autre aspect analytique. Le moût présente une réaction alcaline d'autant plus forte qu'il y a plus de soude additionnée au milieu, ainsi que l'indiquent les chiffres ci-dessous :

Série B : Réaction des milieux.

Milieux.	Analyse immédiate.	Analyse après 10 jours.
Farhydre 3,5. .	Acidité 0,00585 gr. NaOH Alcalinité 0,00300 gr. SO^3	Acidité 0,00570 gr. NaOH Alcalinité 0,00300 gr. SO^3
— 13,0. .	— 0,03675 — —	— 0,01950 — —
— 23,0. .	— 0,06975 — —	— 0,04125 — —
— 33,0. .	— 0,10500 — —	— 0,06450 — —

La réaction acide du farhydre témoin n'a guère varié après dix jours. Il en est de même pour le milieu 3,5 à peu près neutre. Les autres moûts alcalinisés présentent une réaction d'autant plus alcaline qu'il y a plus de soude ajoutée. On remarque, de plus, qu'il y a une rétrogradation de l'alcalinité qui correspond à une destruction de sucre, que nous avons constatée antérieurement.

Rappelons que les quantités de soude ajoutées au moût farhydre sont les suivantes pour 100 cc. de moût :

Farhydre 3,5.	0,014 gr. NaOH.
— 13,0.	0,052 — —
— 23,0.	0,092 — —
— 33,0.	0,132 — —

Si l'on calcule l'alcalinité fixée, on l'obtient en l'évaluant en soude, les chiffres suivants :

Série B : Alcalinité fixée en NaOH 1/10 N.

Milieux.	Analyse immediate.	Analyse après 10 jours.
Farhydre 3,5 .	0,00515 gr.	0,00530 gr.
— 13,0. .	0,00940 —	0,02780 —
— 23,0. .	0,01640 —	0,04505 —
— 33,0. .	0,02115 —	0,06180 —

Du tableau précédent, nous obtiendrons la quantité d'acide formée en dix jours ; elle correspond pour :

Farhydre	3,5.	à 0,00015	gr. NaOH.
—	13,0.	à 0,01840	— —
—	23,0.	à 0,02865	— —
—	33,0.	à 0,04065	— —

Ces chiffres nous indiquent qu'il y a formation d'acides. Les réactions qui les engendrent sont lentes ; le milieu est instable. Sa composition varie constamment. On peut se demander si, au bout d'un temps suffisamment long, on n'observera pas la disparition complète de l'alcalinité et l'apparition d'une réaction acide comme dans la série A.

Mais abandonnons le terrain de la chimie proprement dite. Au lieu de considérer les milieux alcalinisés dans leur composition, voyons comment ils réagissent sur un organisme tel que la levure, sur ses processus vitaux, sur sa forme, sur sa végétation.

Cultures de levures en milieux alcalinisés.

Les cultures que nous avons faites ont été obtenues avec des moûts plus ou moins alcalinisés (moût ordinaire houblonné, neutre, dix et vingt fois alcalin), stérilisés à l'autoclave (voir pour détail à la p. 23). Une trace de culture servit à l'ensemencement. Les cultures ont été faites en liquide (50 cc.) contenu dans de petits flacons d'Erlenmeyer. Elles sont été maintenues à la température du laboratoire : 20° environ.

Les espèces mises en culture sont le *Saccharomyces cerevisiae* Hansen (=S. cerevisiae I Hansen) et trois espèces que nous décrirons plus exactement dans un travail futur : le *Saccharomyces Marchalianus*, Kufferath, nov. spec. — *Torula Laurentii*, Kufferath, nov. spec. — et *Mycoderma Bordetii*, Kufferath, nov. spec. Le *Saccharomyces Marchalianus* est une espèce provenant, d'après les renseignements que nous avons pu obtenir, des Indes Néerlandaise ; elle fut isolée d'une fermentation de fruits. Cette espèce est remarquable par sa sporulation facile ; aucune autre sorte de levure ne sporule aussi abondamment et aussi aisément ; au bout de deux à cinq jours, on trouve, à la température ordinaire, des spores en abondance dans les cultures sur gélose au moût de bière. Cette espèce sporule dans le moût de bière, ainsi qu'on le verra plus loin. *Torula Laurentii* est un organisme isolé par nous d'un malafou ou vin de palme.

rapporté du Congo par notre regretté professeur E. Laurent. Le *Mycorderma Bordetii* a été isolé d'un levain de boulanger par M. le professeur Bordet au moment où Bruxelles fut privé de levure par suite de la guerre. Ce mycoderme ne produit pas de spores ; il fermente les sucres ; incorporé au pain, il produit une fermentation régulière, ce que ne fait pas la levure isolée du même levain ; cette levure donne un pain mieux fermenté, à trous irréguliers, plus grands, de meilleur aspect marchand.

SACCHAROMYCES CEREVISIAE HANSEN.

En *moût de bière ordinaire*, la fermentation se déclare après un jour ; du deuxième au quatrième jour, elle est assez vive, puis elle diminue graduellement d'intensité. L'aspect est normal. On trouvera dans le tableau ci-dessous les quantités d'acide carbonique dégagées. Ces quantités ont été évaluées par perte de poids des ballons ; quoique les chiffres ainsi obtenus soient approximatifs, nous les donnons cependant, car ils permettent de saisir l'allure général du phénomène ; étant obtenu dans les mêmes conditions de culture, ils sont comparables entre eux.

En *moût neutre*, la fermentation est faible le deuxième jour ; elle se maintient assez faible jusqu'au cinquième jour et diminue petit à petit. L'intensité de la fermentation est moindre que dans le moût ordinaire.

En *moût dix fois alcalin*, il faut attendre trois jours avant de constater une fermentation sensible, mais durant toute la durée du phénomène, la production d'acide carbonique est faible.

Le *moût vingt fois alcalin* n'a pas fermenté.

Acide carboniques (en grammes) dégagé pour 50 cc. de liquide expérimenté.

Nature du liquide	Après 1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours	6 jours	7 jours
Moût ordinaire.	0.030	0.630	0.980	1.360	1.410	1.450	1.510
Moût neutre.	0.000	0.330	0.650	0.960	1.200	1.210	1.220
Moût 10 fois alcalin . . .	0.000	0.150	0.200	0.280	0.290	0.310	0.320
Moût 20 fois alcalin . . .	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Nature du liquide	8 jours	9 jours	11 jours	12 jours	14 jours	16 jonrs	23 jours
Moût ordinaire.	1.510	1.570	1.600	1.680	1.760	1.910	—
Moût neutre.	1.320	1.380	1.480	1.530	1.670	1.710	—
Moût 10 fois alcalin . . .	0 320	0.350	0.350	—	0.370	0.420	0.420
Moût 20 fois alcalin .	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

L'examen du tableau précédent confirme les constatations macroscopiques données ci-devant. La plus forte fermentation a été constatée dans le moût ordinaire ; l'addition d'alcali rend le milieu de plus en plus défavorable pour le développement de la levure ; même dans le moût neutre, on constate une diminution de production d'acide carbonique. Il n'est pas étonnant que le moût dix fois alcalin ne nous ai donné qu'une faible fermentation ; on sait qu'il n'y avait plus dans ce milieu que très peu de sucres réducteurs décelables par la réaction à la liqueur Fehling. L'absence de tout sucre réducteur dans le moût vingt fois alcalin nous indique que dans ce milieu aucune fermentation n'était possible ; c'est ce que nous a montré l'expérience.

Les poids de levure desséchée à 100° C., obtenus après vingt-trois jours de culture, sont les suivants, calculés pour un litre de liquide :

Moût ordinaire	2,400	grammes.
— neutre	1,926	—
— dix fois alcalin	0,754	—
— vingt fois alcalin.	0,000	—

L'action défavorable des milieux se marque également sur la récolte ; on doit attribuer cette action aux transformations profondes qu'a fait subir l'addition d'alcali au moût ordinaire.

Les observations microscopiques du dépôt faites après une vingtaine de jours confirment ces constatations. Dans le moût ordinaire, on observe des cellules ovalaires ou arrondies, normales, assez souvent cylindriques ; il y a une grande vacuole et des granules cytoplasmiques assez abondants. Dans le moût neutre et le moût dix fois alcalin, les formes cellulaires sont très semblables à celles du moût ordinaire ; tout au plus remarque-t-on un plus grand nombre de cellules en boudin et des granules cytoplasmiques plus nombreux dans l'intérieur des cellules. Tout différent est l'aspect des cellules du moût vingt fois alcalin. Les cellules sont rares, ovalaires, piriformes, arrondies ; pas de cellules en boudin. Les dimensions cellulaires sont moindres que dans les autres milieux. Le contenu cellulaire est très fortement granuleux ; parfois il y a une vacuole, mais c'est l'exception. Ce qui caractérise les cellules du moût vingt fois alcalin, c'est de posséder un aspect amiboïde ; les cellules présentent des bourgeons multiples, ne se différenciant pas en cellules mais donnant naissance à des prolongements plus ou moins allongés, parfois vermiformes, tout à fait particuliers. Il n'est pas douteux

que dans le cas présent les formes amiboïdes résultent d'un bourgeonnement qui s'est produit anormalement ; les nouvelles cellules représentées par les jeunes bourgeons vermiformes ne peuvent se constituer ; peut-être les noyaux ne se divisent-ils pas, tandis que les bourgeons sont déjà constitués. Le bourgeon formé ne recevant pas le noyau, qui donne à la cellule son individualité, continue à s'accroître une fois formé ; c'est ce qui expliquerait ces formes anormales et bizarres.

SACCHAROMYCES MARCHALIANUS KUFFERATH.

Cette levure produit en *moût de bière* houblonné une fermentation un peu moins énergique que la levure de bière ordinaire. La fermentation, nulle après un jour (le moût ayant été faiblement ensemencé), est assez forte après deux jours ; un fort dépôt adhérent s'est formé ; cette fermentation se maintient assez régulièrement. C'est ce qu'indiquent les pesées. Dans la courbe indiquant les pertes de poids dues à CO^2, on ne remarque pas, ainsi que cela existe pour *S. cerevisiae*, une ascension brusque jusqu'au quatrième ou cinquième jour ; au contraire, on voit le dégagement de gaz se faire très régulièrement pendant toute la durée de la fermentation. Il n'y a pas de distinction nette entre la première partie de la fermentation (*qui est tumultueuse chez S. cerevisiae*) et la suivante. On pourra peut-être encore mieux se rendre compte de ces différences dans la marche de la fermentation en comparant les essais faits en moût neutre avec *S. cerevisiae* et *S. Marchalianus*.

En *moût neutre*, la fermentation ne se déclare manifestement qu'à partir du troisième jour. Pourtant, dès le deuxième jour, on constate la formation d'un dépôt adhérent. La fermentation se continue régulièrement faible les jours suivants. Il ne se forme pas de voile ; tout comme dans le moût ordinaire, le liquide fermenté devient clair et limpide, sa coloration n'est pas modifiée.

En *moût dix fois alcalin*, la fermentation n'apparaît qu'après trois jours ; encore reste-t-elle très faible. La seule chose à remarquer est la formation d'un dépôt adhérent de levures.

Le *moût vingt fois alcalin* n'a donné lieu ni à fermentation, ni à formation d'un dépôt.

Acide carbonique (en grammes) dégagé pour 50 cc. de liquide expérimenté.

Nature du liquide	Après 1 jour	2 jours	3 jours	3 jours	5 jours	6 jours	7 jours
Moût ordinaire	0.000	0.430	0.580	0.840	1.010	1.150	1.260
Moût neutre	0.000	0.330	0.490	0.590	0.670	0.710	0.790
Moût 10 fois alcalin . . .	0.000	0.070	0.080	—	0.160	0.180	0.190
Moût 20 fois alcalin . . .	0.000	0.070	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Nature du liquide	8 j.	9 j.	11 j.	14 j.	16 j.	23 j.
Moût ordinaire	1.280	1.410	1.5 0	1.630	1.710	1.830
Moût neutre	0.870	0.900	1.000	1.140	1.270	1.380
Moût 10 fois alcalin	—	0.200	0.200	—	0.200	0.210
Moût 20 fois alcalin	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Les conclusions à tirer du tableau précédent sont analogues à celles que nous avons eues pour le *S. cerevisiae*. L'addition d'alcali entrave d'autant plus la fermentation qu'on en a plus ajouté ; cette addition a aussi une répercussion sur les récoltes obtenues après vingt-trois jours. Les poids de levure sèche à 100° sont :

Moût ordinaire	1,724 gr	pour 1 litre.
— neutre	1,198 —	—
— dix fois alcalin	0,382 —	—
— vingt fois alcalin	0,000 —	—

L'examen microscopique direct du dépôt du moût ordinaire après une vingtaine de jours montre des cellules arrondies ou ovalaires, rarement cylindriques. Les cellules sont isolées les unes des autres, elles présentent une grande vacuole et des granules assez nombreux. Les spores formées sont très rares. On observe un aspect semblable dans le moût neutre où on constate un plus grand nombre de spores. Les spores ne sont pas réfringentes ; elles sont groupées au nombre de deux, trois, quatre dans le sporange qui montre quelques granules réfringents dans son épiplasme. Le moût dix fois alcalin, examiné au microscope, présente les mêmes particularités que la culture précédente. Au contraire, le moût vingt fois alcalin ne renferme que peu de cellules. Celles-ci sont ovalaires, arrondies, parfois un peu elliptiques ; elles possèdent de nombreux granules réfringents. Les cellules végétatives ont des dimensions moindres que celles des

autres cultures. Les spores sont nombreuses, plus abondantes que les cellules végétatives; elles présentent les caractères qui ont été signalés ci-dessus. Nous avons dit que *S. Marchalianus* est remarquable par sa facilité de sporulation. La formation abondante de spores en milieu liquide est certainement digne d'être signalée. On sait, d'après toutes les observations faites jusqu'à maintenant, que le fait de sporuler abondamment est rare dans les liquides en fermentation. Pour une bonne sporulation, on conseille en effet d'employer des milieux solides : gélatine, blocs de plâtre, légumes, etc. (Beyerinck, Hansen, Guillermond, etc.). Il n'est pas douteux que, dans le cas présent, la composition défavorable du moût vingt fois alcalin intervient comme facteur amenant la sporulation.

MYCODERMA BORDETII KUFFERATH.

En moût de bière, on observe après un jour un voile très friable et un faible dépôt. Après deux jours, le voile est fortement développé ; il est sec, plissé, grimpe sur les parois de verre ; le dépôt est assez faible, facile à mettre en suspension ; par agitation, on remarque un faible dégagement d'acide carbonique. La culture dégage une agréable odeur d'éthers de fruit. Pendant les jours suivants, on continue d'observer un faible dégagement d'acide carbonique, le voile détruit se reforme, le dépôt augmente, le liquide trouble finit par s'éclaircir à la longue. Il n'est pas douteux que le faible dégagement d'acide carbonique provient, ainsi que Pasteur le montra dans ses études sur la bière, de l'immersion de *Mycoderma*. Après un mois, le voile sec est assez fortement développé, il grimpe aux parois ; le liquide est clair, le dépôt fort.

Dans le moût neutre, on remarque les mêmes particularités de culture (quoique atténuées) que dans le moût ordinaire. Le dégagement d'acide carbonique est plus faible, le voile est moins fortement développé.

Le moût dix fois alcalin ne montre après un jour qu'un faible dépôt. Le voile formé le deuxième jour est assez faible, sec, grimpant sur les parois ; le dépôt augmente peu ; le dégagement d'acide carbonique est très faible. Après un mois, le voile forme des îlots séparés sur le liquide, le dépôt est assez abondant.

Dans le moût vingt fois alcalin, on n'observe aucun phénomène de croissance, il n'y a pas de dépôt, ni de voile formé, il n'y a pas de fermentation, même après un mois.

Acide carbonique (en grammes) dégagé pour 50 cc. de liquide.

Nature du liquide	Après 1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	5 jour	7 jours	8 jours	12 jours	12 jours
Moût ordinaire . . .	0.030	0.270	0.360	0.410	0.510	0.520	0.540	0.580	0.590
Moût neutre	0.000	0.040	0.230	0.300	0.410	0.450	0.460	0.450	0.450
Moût 10 fois alcalin . .	0.000	0.010	0.070	0.080	—	—	—	—	—
Moût 20 fois alcalin . .	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

La faible fermentation produite par *Mycoderma Bordetii* s'observe pendant les cinq premiers jours pour les moûts ordinaire et neutre; elle est à peu près nulle les jours suivants. Le milieu dix fois alcalin permet une fermentation très faible et lente, pratiquement on peut la considérer comme nulle.

Les poids de levure récoltés sont les suivants (séché à 100°) après vingt jours de culture :

Moût ordinaire	3,190	grammes.
— neutre	1,776	—
— dix fois alcalin.	0,856	—
— vingt fois alcalin.	0,000	—

Les cellules examinées à un fort grossissement ont le même aspect dans les moûts ordinaire et neutre. On voit des cellules elliptiques ou cylindriques, parfois assez longues. Elles sont en bourgeonnement actif et se présentent assez fréquemment sous forme de filaments plus ou moins ramifiés. Dans la cellule, on distingue une ou deux vacuoles (généralement une seule) et un petit nombre de granules réfringents. Nous n'avons pu trouver de spores.

Nous retrouvons dans le moût dix fois alcalin la plupart des caractères décrits ci-devant ; la seule différence nette réside dans le plus grand nombre de granules cellulaires. Le moût vingt fois alcalin ne renferme que peu de cellules en boudin, les cellules bourgeonnantes sont peu fréquentes. La membrane cellulaire est parfois épaissie, le contenu cellulaire est formé d'un assez grand nombre de granules réfringents. Il n'y a pas de spores formées.

Dans leur ensemble, les cellules de *Mycoderma Bordetii* présentent peu de particularités distinctives suivant les milieux utilisés.

TORULA LAURENTII KUFFERATH.

En moût ordinaire, on remarque après un jour la formation d'un faible dépôt. Après deux jours, le liquide est louche; un anneau apparaît vers le troisième jour. Après huit jours, le liquide est trouble; un faible anneau s'est formé sur la paroi de ballon; le dépôt de cellules est fortement développé, facile à mettre en suspension. Au bout d'un mois de culture, il s'est formé un très fort voile, sec, blanc, épais; le liquide est trouble, le dépôt est fort, de couleur blanche.

Les cultures en moût neutre rappellent au début celles en moût ordinaire; après un mois, le voile est assez fortement développé: il est blanchâtre, sec, velutineux, grimpe sur le verre; un fort dépôt est formé, le liquide est trouble.

En moût dix fois alcalin, les cultures poussent mal au début; on ne remarque que la formation d'un dépôt. Ce n'est qu'après huit jours qu'on voit apparaître un anneau. Après un mois, un voile sec, assez faiblement développé s'est constitué; il n'est pas plissé et grimpe sur les parois du ballon. Il y a un fort dépôt blanchâtre.

La culture en moût vingt fois alcalin pousse très lentement pendant les premiers jours; on remarque seulement la formation d'un dépôt. Après huit jours, un voile assez fort, sec, couvre le liquide, il grimpe aux parois. Au bout d'un mois, le voile ne s'est pas fort développé, le dépôt de levures est assez abondant.

Torula Laurentii diffère des autres levures que nous avons étudiées par le fait qu'elle peut prospérer sur le moût vingt fois alcalin. Les quantités de levure produites sont aussi plus grandes, ainsi que l'indiquent les poids de Torula récoltés, séchés à 100° C. et rapportés à un litre de milieu nutritif.

Moût ordinaire	7,326	grammes.
— neutre	5,784	—
— dix fois alcalin.	0,618	—
— vingt fois alcalin.	0,618	—

Torula Laurentii ne produit aucune fermentation dans le moût ordinaire. L'aspect microscopique des cellules est très uniforme dans les diverses cultures. Les cellules sont sphériques ou un peu ovalaires, souvent très petites. La membrane cellulaire est nette. Les cellules du voile présentent d'habitude un gros granule réfringent (graisse), tandis que les cellules du dépôt

montrent un protoplasme vacuoleux, plus ou moins granuleux avec un, deux ou plusieurs petits grains réfringents. Cette espèce paraît être moins sensible aux variations de composition du milieu nutritif, si nous la comparons à *Saccharomyces cerevisiae*, à *S. Marchalianus* et à *Mycoderma Bordetii*.

Les résultats biologiques et microscopiques que nous venons de consigner ci-dessus pour des espèces très différentes de levures montrent que les milieux au moût de bière alcalinisés constituent des milieux très spéciaux, généralement défavorables pour la vie des levures. La cause des végétations pénibles constatées dans les moûts alcalinisés doit être recherchée dans les modifications chimiques consécutives à l'alcalinisation dont nous avons essayé d'esquisser l'histoire dans la première partie de cette étude. Les résultats que nous avons obtenus permettent d'espérer pour l'avenir une solution des problèmes soulevés par l'alcalinisation des milieux au moût de bière.

(Travail de l'Institut Pasteur du Brabant
et du Laboratoire Intercommunal de Bruxelles.)

Un cas de tachycardie « paroxystique » hétérotopique permanente : particularités de l'action du strophantus. Considérations sur les phénomènes hétérotopiques des oreillettes.

par le Dr René Wybauw

Je désire vous entretenir aujourd'hui d'un cas clinique intéressant par le fait qu'il a présenté des phénomènes tellement caractérisés qu'on pourrait le comparer à une expérience de laboratoire. Il s'agit d'une personne de 68 ans qui s'est présentée pour la première fois à mon service de consultation de la Policlinique le 3 janvier 1916, à une époque où j'étais absent du pays. Elle fut soignée par le Dr Dumont, mon assistant, et le Dr De Meyer, qui travaillait également dans mon service à ce moment. Elle aurait eu, quinze ans auparavant, une crise d'œdème sur laquelle nous n'avons pas de détails, et sa maladie se serait lentement développée en une vingtaine d'années. Elle se plaignait seulement de dyspnée et de palpitations ; le pouls était toujours rapide, au 36 au quart. La pression du sang était légèrement exagérée (maximum 170, minimum 110 mm. à mon oscil-

TABLE DES MATIÈRES

ANNALES ET BULLETIN DES SEANCES

74e ANNÉE. — 1920.

Pages

Tableau des membres 1
Membres titulaires 2
Membres honoraires 5
Membres associés régnicoles 6
Membres associés étrangers 7

Séance du 5 janvier.

Sur un genre nouveau d'arythmie sinusale (L'accélération sinusale intermittente), par M. JEAN DE MEYER. 13
Peut-on obtenir du moût de bière alcalin? par M. HUBERT KUFFERATH 16
Un cas de tachycardie « paroxystique » hétérotopique permanente: particularités de l'action du strophantus. Considérations sur les phénomènes hétérotopiques des oreillettes, par M. RENÉ WYBAUW. 46

Séance du 2 février.

A propos de quelques cas de chirurgie pancréatique, par M. LÉOPOLD MAYER. 56
L'intoxication houillère arsenicale, par M. AUGUSTE SLOSSE . . . 68
L'hygiène sociale et le corps médical, par M. ADRIEN BAYET . . . 75
Vœu concernant les questions de prophylaxie et d'hygiène sociale. 86

Séance du 1er mars.

Décès du Dr Geens, de Tirlemont 87
Un cas de pseudospirochétose bronchique, par M. PAUL GOVAERTS. 88
Un essai de classification chimique des silicates naturels, par M. PAUL ERCULISSE 96

Séance du 12 avril.

Pages

Maurice Herlant, par M. ALBERT BRACHET. 110

Le cycle de la vie cellulaire ; recherches physiologiques sur la division de la cellule (note préliminaire), par M. MAURICE HERLANT. 112

Sur l'affaiblissement des clichés par M. JULES WAUTERS. 117

Séance du 3 mai.

Présentation de deux cas de chirurgie gastrique, par M. LÉOPOLD MAYER, ... 122

Contribution à l'étude de Polygonum Bistorta (L.). — Localisation du Tanin. Son emploi comme succédané du Krameria Triandra (Ruiz et Pavon), par M. NESTOR WATTIEZ 123

A propos des températures critiques de solution, par M. LÉON CRISMER , ... 129

Séance du 7 juin.

Vœu concernant l'Université de Gand 130

A la mémoire d'Edouard Van Beneden, par M. H. KEIFFER . . 131

Présentation d'un cas de Stokes-Adams sans symptômes subjectifs, par M. JEAN DE MEYER 132

Recherches sur la grossesse extra-utérine, par M. H. KEIFFER . . 133

Séance du 5 juillet.

Cas d'hypertrophie carotidienne, par M. JEAN DE MEYER. . . 138

Les denrées alimentaires pendant la guerre. IV. Le café, le chocolat, les épices, etc., par M. JULES WAUTERS 139

Rapports du secrétaire et du trésorier 147

Elections du président et du vice-président 147

Séance du 4 octobre.

Décès de MM. Jorissen (de Liége) et Godart-Danhieux. 149

La lutte pour l'existence entre les plantes dans les inondations de l'Yser, par M. JEAN MASSART 151

Séance du 7 novembre.

Décès des Drs Delbastaille (de Liége), Piron (de Roclenge-sur-Geer), Van den Bosch (de Liége) 153

Félicitations à M. Jules Bordet, lauréat du Prix Nobel 1919 pour la médecine . . . . . , 154

Pages.

Ostéome de la paroi abdominale consécutif à une gastrectomie subtotale, par M. LÉOPOLD MAYER. 154

Deux cas de pansinusectomie double, ayant provoqué des troubles graves du fond de l'œil, opérés en une séance. — Guérison, par M. VICTOR CHEVAL 156

L'utilisation de la lampe à vide à trois électrodes en physiologie et en médecine, par M. MAURICE PHILIPPSON. 158

Séance du 6 décembre.

Quelques aspects du problème de l'hérédité, par M. ALBERT BRACHET 162

BIBL.
LONDIN.
UNIV.